

**Дослідження процесів кріомеханохімії при розробці нанотехнологій добавок із хлорофілвмісних овочів та відкриття прихованих форм хлорофілу**

**Р. Ю. Павлюк, В. В. Погарська, О. С. Погарський, К. В. Дудник,  
С. М. Лосєва**

*Вивчено процеси кріомеханохімії при розробці харчових нанотехнологій добавок в формі заморожених паст в нанорозмірній формі із хлорофілвмісних овочів (ХВО): шпинату, зелені селери та петрушки. Нанотехнології засновані на використанні як інновації комплексної дії кріогенного «шокового» заморожування та низькотемпературного дрібнодисперсного подрібнення, що супроводжуються процесами кріомеханодеструкції та кріомеханохімії. Розроблені нанотехнології дають змогу не тільки зберегти хлорофіли а і b, β-каротин та інші БАР вихідної сировини, а також більш повно вилучити приховані неактивні зв'язані з біополімерами (білком, полісахаридами) форми БАР у вільну легкозасвоювану форму. Виявлено зв'язані неактивні форми хлорофілу та інших БАР в ХВО при переробці за кріотехнологією в оздоровчі продукти – заморожені кріопасту в нанорозмірній формі. Встановлено, що в ХВО в зв'язаній формі знаходиться в 3,0...3,5 раз більше хлорофілу та інших БАР, ніж можна екстрагувати із свіжих хлорофілвмісних овочів. Показано, що масова частка БАР в кріопастах із ХВО в 2,5...3,5 рази більше ніж у свіжих овочах. Розкрито механізм процесів збільшення.*

*Встановлено, що активність окислювальних ферментів (пероксидази та поліфенолоксидази) ХВО кріозаморожених з високою швидкістю залежить від кінцевої температури заморожування продукту. Встановлено, що заморожування до температури в середині продукту –35...–40 °С призводить до повної інактивації окислювальних ферментів, в той час як заморожування до –18 °С призводить до збільшення активності ферментів в 1,4...1,5 раз, як у випадку активації ферментів під дією теплової обробки сировини при +35 °С. Розкрито механізми процесів кріомеханохімії, які пов'язані з механокрекінгом та повною інактивацією окислювальних ферментів.*

*Розроблені кріопасту із ХВО не мають аналогів, є джерелом унікального комплексу БАР (хлорофілів а і b, β-каротину, L-аскорбінової кислоти, фенольних сполук та ін.). Із застосуванням отриманих кріопаст розроблена зелена лінійка оздоровчих продуктів, де добавки із ХВО виступають як натуральні барвники, згущувачі, стабілізатори текстури*

*Ключові слова: кріомеханохімія, кріогене «шокове» заморожування, хлорофілвмісні овочі, хлорофіл, оздоровчі продукти, приховані форми БАР*

## **1. Вступ**

Актуальність роботи пов'язана з глобальною світовою проблемою, яку необхідно вирішувати вже сьогодні. Це зниження імунітету у населення, що викликано

дефіцитом (біля 50 %) в раціонах харчування вітамінів та інших біологічно активних речовин, дефіцитом білку, незбалансованим харчуванням, що ускладнюється загальним погіршенням екологічної ситуації в світі [1–3]. Підвищити імунітет можна шляхом вживання оздоровчих продуктів з високим БАР (вітамінів, мінеральних речовин, фітокомпонентів), білків та пребіотичних речовин (пектинів, целюлози та ін.) [2–4]. Перераховані речовини сприяють зміцненню захисних сил організму, мають детоксикуючу, антиокислювальну та адаптогенну дію [4, 5]. Джерелом перелічених БАР є плоди, овочі та оздоровчі продукти із них.

Вирішенню проблеми імунодефіциту приділяється велика увага в багатьох країнах світу. Зокрема, популярністю користуються оздоровчі продукти із плодів та овочів, що спрямовані на зміцнення здоров'я [5].

Слід зазначити, що на сьогоднішній день в раціонах харчування населення потреба в свіжих овочах і фруктах задовольняється на 50 % [1, 3]. Дефіцит частково покривається за рахунок замороженої продукції. На відміну від провідних країн світу, таких як США, Німеччина, Франція, Японія, в яких річне споживання заморожених плодів та овочів становить 40...100 кг на душу населення, в Україні споживання складає 300 г на рік [6]. Це пов'язано з недостатньо розвинутим сегментом харчової галузі, що займається виробництвом заморожених плодів, овочів та напівфабрикатів із них.

Перспективною сировиною для отримання зелених заморожених продуктів та добавок оздоровчого спрямування є хлорофілвмісні овочі (ХВО). До складу ХВО входять: шпинат, капуста броколі, брюссельська капуста, зелений горошок, зелень селери, кропу, петрушки та ін. [6]. Зазначені ХВО є джерелом хлорофілу в харчуванні населення [7, 8]. Масова частка хлорофілу в них складає від 0,1 до 0,8 % [6, 9]. На сьогодні спостерігається дефіцит отриманих із ХВО натуральних зелених добавок та оздоровчих продуктів. Перспективною є розробка із ХВО заморожених хлорофілвмісних добавок та продуктів з високим вмістом хлорофілу.

## **2. Аналіз літературних даних та постановка проблеми**

За останніми даними провідних онкологів та вітамінологів США, Японії, Нідерландів, Швеції та ін., доведені протупухлинні, імуномодулюючі, детоксикуючі, антиоксидантні та протипремениві властивості хлорофілу [7, 10]. Встановлені захисні властивості пояснюються хімічною будовою його молекул. За структурою молекули хлорофілу наближаються до структури гемоглобіну крові людини і представляють собою ненасичені порфіринові кільця [4, 6]. Відмінність структури молекул полягає в тому, що в центральній частині гема крові знаходиться атом заліза, а в центрі молекули хлорофілу – магній [11, 12]. Молекули хлорофілу, як і гемоглобіну крові відносяться до реакційно-активних ненасичених кон'югованих сполук, які блокують негативні процеси, що відбуваються в організмі людини. Останні пов'язані з дією канцерогенів, вільних окислювальних радикалів, алергенів, процесів старіння та інших негативних факторів [4, 6].

Незважаючи на унікальні цілющі властивості хлорофілу хлорофілвмісні овочі не знайшли належного застосування у харчуванні населення [6]. Це пов'язано з відсутністю інформації про цілющі властивості хлорофілу, про реко-

мендовані добові норми його споживання та реклами продуктів із ХВО. В раціонах харчування використовуються переважно свіжі хлорофілвмісні овочі. Це пов'язано з тим, що при переробці ХВО в харчові продукти існують об'єктивні труднощі, причиною яких є те, що хлорофіли *a* і *b* є нестійкими сполуками, які при переробці швидко руйнуються, знебарвлюються або набувають бурого кольору та втрачають свої властивості [4, 6]. Показано, що втрати хлорофілів при переробці ХВО під дією теплової обробки становлять від 20 до 100 %, при заморожуванні – до 35 % та при розморожуванні ще біля 50 % [12–14].

Одним із прогресивних методів переробки та консервування продуктів рослинного та тваринного походження є «шокове» заморожування [5, 6, 14], що засновано на використанні як холодоагенту кріогенних рідин. При цьому як кріоагент використовують рідкий азот, вуглекислоту та ін. Встановлено пряму залежність ступеня збереження вітамінів та інших БАР, втрат клітинного соку при розморожуванні та збереження продуктів із плодів та овочів від швидкості заморожування [15, 16].

Аналіз даних літературних джерел за останні 10 років показав, що в міжнародній практиці проблема збереження та стабілізації хлорофілу та інших БАР при переробці ХВО в готові продукти в тому числі, при заморожуванні, майже не вирішена [14, 16]. Вирішення зазначеної проблеми потребує нових нестандартних підходів, ідей, інновацій. Варіантом вирішення проблеми збереження та стабілізації хлорофілу та інших БАР при переробці ХВО в заморожені дрібнодисперсні добавки є застосування як інновації методу глибокої переробки сировини, який заснований на комплексній дії на сировину кріогенного «шокового» заморожування та дрібнодисперсного подрібнення [15, 16]. Застосування зазначеного методу глибокої переробки забезпечує найбільш високий ступінь збереження вітамінів та інших БАР [17, 18]. Недоліком існуючого кріогенного способу заморожування продуктів до  $-18...-25$  °C є значні втрати вітамінів та інших БАР (до 50 %) при розморожуванні після зберігання замороженого продукту протягом 6 місяців. Крім того, спостерігаються втрати клітинного соку при розморожуванні, що становлять до 10 % [20–22].

Наукові дослідження по кріогенним технологіям заморожування плодів і овочів присвячені переважно вивченню процесів кристалоутворення, теплофізичних процесів [14, 20], розробці математичних моделей регулювання зазначених процесів, вивченню традиційних фізико-хімічних показників продуктів [23], а також констатації втрат клітинного соку [22, 24] та вітамінів [21, 25].

Виключення складають результати попередніх фундаментальних та прикладних досліджень, присвячених впливу комплексної дії кріогенного «шокового» заморожування та дрібнодисперсного подрібнення плодів, овочів, грибів [15–17]. Отримані результати попередніх наукових досліджень стали основою при розробці кріогенної нанотехнології та кріогенного обладнання, що були впроваджені на ряді підприємств України, Латвії та ін. Зокрема, розроблені кріогенні нанотехнології заморожених плодів та овочів та дрібнодисперсно подрібнених пастоподібних добавок із фруктів [27–29], дрібнодисперсних кріопаст із каротинвмісних овочів та ягід [26], топінамбуру [29], грибів [27], прямих овочів та натуральних прянощів [30]. Розроблені кріогенні технології дозволи-

ли зробити відкриття в отриманих продуктах із плодів та овочів прихованих форм БАР (вітамінів, каротиноїдів, фенольних сполук), масова частка яких в отриманих продуктах в 2,0...3,5 рази більше ніж в вихідній рослинній сировині [15, 16, 27]. Розкрито механізми збільшення низькомолекулярних БАР, які знаходяться в заморожених продуктах в нанорозмірній формі [6]. Саме такий підхід використовується в роботі.

Проведений аналіз даних літератури свідчить про те, що на сьогоднішній день залишається невирішеним питання, чому при отриманні замороженої продукції та при подальшому розморожуванні відбуваються значні втрати хлорофілу та інших БАР. Втрати становлять: 25...35 % – при «шоковому» заморожуванні ХВО, 50...60 % – при розморожуванні продукту [6, 13, 28]. Не розроблені кріогенні технології заморожування ХВО та кріопаст із них, що дають можливість зберегти хлорофіли та інші БАР під час заморожування, зберігання та подальшого розморожування продукту. Не вивчені процеси, які відбуваються при кріогенному «шоковому» заморожуванні та при дрібнодисперсному подрібненні ХВО. Це потребує глибоких знань біохімічних, ферментативних та механохімічних процесів, які відбуваються при кріозаморожуванні та дрібнодисперсному подрібненні ХВО в оздоровчі добавки – напівфабрикати та продукти. При кріогенному «шоковому» заморожуванні та низькотемпературному дрібнодисперсному подрібненні перераховані процеси будуть відбуватися інакше, ніж при традиційних методах швидкого «шокового» заморожування та подрібнення за температури  $-18^{\circ}\text{C}$ . Це вимагає додаткових досліджень.

### **3. Мета і завдання дослідження**

Метою роботи є дослідження процесів кріомеханохімії при розробці нанотехнології кріозаморожених оздоровчих добавок із хлорофілвмісних овочів в нанорозмірній формі із використанням рідкого та газоподібного азоту з високим ступенем збереження хлорофілу та інших БАР, без втрат при розморожуванні та без застосування штучних харчових домішок.

Для досягнення мети були поставлені такі завдання:

- вивчити процеси кріомеханохімії та вплив кріообробки з використанням високих швидкостей при «шоковому» заморожуванні та дрібнодисперсному подрібненні ХВО на збереження та трансформацію хлорофілу та інших БАР;
- провести модельні експерименти щодо вивчення впливу високої швидкості кріогенного «шокового» заморожування та кінцевої температури продуктів із ХВО на ферментативні процеси (активність окислювальних ферментів) та їх інактивацію в порівнянні з традиційним заморожуванням;
- розробити кріогенну нанотехнологію заморожених дрібнодисперсних добавок із ХВО із використанням кріогенного «шокового» заморожування із застосуванням рідкого та газоподібного азоту та процесів кріомеханохімії та кріомеханодеструкції при низькотемпературному подрібненні без застосування штучних домішок;
- вивчити вміст хлорофілу та інших БАР в кріозаморожених нанодобавках із ХВО в порівнянні з аналогами та обґрунтувати доцільність застосування при

виробництві продуктів для здорового харчування як джерела хлорофілу та інших БАР, структуроутворювача.

#### **4. Матеріали та методи досліджень при розробці нанотехнологій кріо-заморожених добавок із хлорофілвмісних овочів**

##### **4.1. Матеріали та обладнання, що використовувалися під час експериментальних досліджень**

Наукові дослідження проводились в Харківському державному університеті харчування та торгівлі (ХДУХТ, Україна) на кафедрі технологій переробки плодів, овочів і молока. Експериментальні дослідження проведені на базі науково-дослідної лабораторії «Інноваційних кріо- і нанотехнологій рослинних добавок та оздоровчих продуктів» зазначеної кафедри.

Наукові дослідження, що представлені і роботі, є продовженням роботи «Створення та впровадження прогресивних технологій і ефективного обладнання для отримання нових функціональних харчових продуктів», яка в 2006 році була удостоєна Державної премії України в галузі науки і техніки.

Як матеріали досліджень були обрані хлорофілвмісні овочі: листя шпинату (сортів «Вікторія», «Рембор», «Кріпиш», «Мотодор»), зелень петрушки (сортів «Астра», «Господиня», «Альба», «Листова кучерява»), зелень селери (сортів «Діамант», «Каскаде», «Президент», «Празький гігант»), заморожені дрібнодисперсні добавки – напівфабрикати із них, а також оздоровчі продукти з використанням отриманих добавок.

Кріогенне «шокове» заморожування проводили в швидкоморозильному експериментальному апараті з використанням як холодоагенту та інертного середовища рідкого та газоподібного азоту. Апарат призначений для заморожування продуктів з твердою оболонкою та рідких продуктів, поміщених в спеціальну тару. Температура газового середовища в морозильній камері виставляється вручну і автоматично підтримується постійною протягом усього експерименту. Під час проведення модельних досліджень оптимальною температурою в морозильній камері була обрана температура мінус 60 °С. Заморожування ХВО проводили з високою швидкістю від 0,5 до 10 °С в хвилину до кінцевих температур в середині продукту –18 °С...–40 °С.

Для дрібнодисперсного подрібнення хлорофілвмісних овочів використовувався гомогенізатор-подрібнювач Robot Coupe (Франція) та низькотемпературний подрібнювач RascoJet (Франція) [6].

##### **4.2. Експерименти щодо вивчення впливу процесів кріомеханохімії, кріомеханодеструкції на хлорофіли та інші БАР при переробці хлорофілвмісних овочів**

В свіжих та кріозаморожених хлорофілвмісних овочах (листя шпинату, зелені селери, зелені петрушки), а також в замороженому дрібнодисперсному пюре із них визначали якість за вмістом БАР, зокрема:

– хлорофілів, спектрофотометричним методом шляхом визначення оптичної густини ацетонових витяжок дослідних зразків;

- L-аскорбінової кислоти, методом візуального та потенціометричного титрування розчином 2,6-дихлорфеноліндофенята Na;
- низькомолекулярних фенольних сполук (за рутином та хлорогеновою кислотою окремо), колориметричним методом Фоліна-Деніса в перерахунку за рутином та окремо за хлорогеновою кислотою;
- поліфенольних сполук, титриметричним методом заснованим на властивості поліфенольних сполук окислюватися в присутності індикатора індигокарміну, розрахунок дубильних речовин проводили в перерахунку за таніном;
- $\beta$ -каротину, колориметричним методом Мурі після екстрагування каротину з продукту органічним розчинником і очищення каротину від супутніх барвних речовин за допомогою колонкової хроматографії;
- окислювальних ферментів, метод заснований на властивості хінонів окислювати аскорбінову кислоту.

У вихідній сировині, розроблених нанодобавках із ХВО та оздоровчих продуктах з їх використанням відбір середніх проб, вміст сухих речовин, органолептичні показники, вміст загального цукру та пектину визначали згідно діючим ГОСТам.

При виконанні роботи використовували загальноприйняті стандартні та спеціальні методи досліджень: фізико-хімічні, біохімічні, спектроскопічні. Обробку результатів експериментальних досліджень проводили із застосуванням методів математичної обробки з використанням комп'ютерних програм MathCad та Microsoft Excel.

## **5. Результати досліджень впливу процесів кріомеханодеструкції на хлорофіли та інші БАР ХВО при розробці нанотехнологій кріозаморожених добавок**

Сировиною при розробці нанотехнологій кріозаморожених добавок – напівфабрикатів у формі заморожених паст були обрані різні районовані в Україні сорти свіжих хлорофілвмісних овочів з високим вмістом хлорофілу (листя шпинату, зелень селери та петрушки). ХВО відомі своїми цілющими, лікувально-профілактичними властивостями, які визначаються їх хімічним складом. Результати впливу процесів кріомеханохімії та кріообробки з використанням високих швидкостей при «шоковому» заморожуванні та дрібнодисперсному подрібненні хлорофілвмісних овочів на збереження та трансформацію хлорофілу та інших БАР представлені в табл. 1.

Під час виконання роботи відкрито унікальний метод збереження та додаткового вилучення із ХВО хлорофілу, що закладений природою в рослинних клітинах. Встановлено, що масова частка хлорофілу, який вилучається в дрібнодисперсні добавки, в 3,2...3,8 раз більша, ніж визначається в свіжих хлорофілвмісних овочах (табл. 1, рис. 1).

Таблиця 1

Результати визначення впливу процесів механохімії під час комплексної дії кріообробки при «шоковому» заморожуванні та дрібнодисперсному подрібненні ХВО на збереження та вилучення хлорофілу та інших БАР у вільну активну форму ( $n=3$ ,  $P \geq 0,95$ )

Продукт	Масова частка									
	хлорофілів				$\beta$ -каротину		L-аскорбі- нової кислоти		поліфенолів (за таніном)	
	a		b							
	мг в 100 г	% до вих. сир.	мг в 100 г	% до вих. сир.	мг в 100 г	% до вих. сиров.	мг в 100 г	% до вих. сиров.	мг в 100 г	% до вих. сиров.
Листя шпинату (сорт «Вікторія»)										
Свіжий	190,2	100,0	550,0	100	7,5	100,0	78,2	100,0	380,2	100,0
Заморожений до $-18^{\circ}\text{C}$	202,5	106,0	575,0	104,5	15,0	200,0	77,1	99,0	375,0	98,2
Заморожений до $-18^{\circ}\text{C}$ та дрібнодисперс- но подрібнений	275,2	151,5	650,0	118,1	18,7	250,0	102,0	140,2	517,5	138,0
Заморожений до $-40^{\circ}\text{C}$	380,1	200,0	1115,0	202,3	19,0	251,4	195,5	250,0	577,6	152,0
Заморожений до $-40^{\circ}\text{C}$ та дрібнодисперс- но подрібнений	657,0	341,0	1680,0	300,0	23,3	310,0	274,7	301,0	710,6	187,0
Зелень селери (сорт «Президент»)										
Свіжа	88,2	100,0	264,0	100,0	3,5	100,0	98,0	100,0	350,4	100,0
Заморожена до $-18^{\circ}\text{C}$	92,4	101,4	270,2	102,1	7,6	206,0	96,2	98,0	352,0	101,0
Заморожена до $-18^{\circ}\text{C}$ та дріб- нодисперсно подрібнена	150,2	160,5	369,6	148,0	8,0	228,0	139,0	142,0	490,0	140,0
Заморожена до $-40^{\circ}\text{C}$	176,0	200,0	554,4	210,0	8,8	250,0	200,0	205,0	497,0	142,0
Заморожена до $-40^{\circ}\text{C}$ та дріб- нодисперсно подрібнена	265,2	301,1	792,0	301,0	10,7	306,0	278,0	284,0	612,0	175,0
Зелень петрушки (сорт «Листова кучерява»)										
Свіжа	124,6	100,0	364,8	100,0	3,9	100,0	250,0	100,0	270,0	100,0
Заморожена до $-18^{\circ}\text{C}$	130,5	104,0	378,2	103,9	7,7	198,0	252,5	101,8	264,0	98,0
Заморожена до $-18^{\circ}\text{C}$ та дріб- нодисперсно подрібнена	186,0	150,2	527,8	145,0	7,8	200,0	350,0	140,0	356,0	135,0

# Закінчення таблиці 1

Заморожена до -40 °С	272,8	220,0	800,0	221,0	9,7	250,0	575,0	230,4	540,0	200,0
Заморожена до -40 °С та дрібнодисперсно подрібнена	347,2	280,1	1274,0	350,1	11,8	280,4	800,0	320,4	756,0	280,0

Біохімічними, хімічними та спектроскопічними методами досліджень на прикладі хлорофілвмісних овочів встановлена помилковість загальноприйнятих уявлень про кількість в плодовоовочевій сировині прихованих (зв'язаних) неактивних форм хлорофілів, каротиноїдів та інших БАР (від 5 до 10 %). Показано, що застосування кріогенного «шокового» заморожування дає змогу вилучити та трансформувати БАР із прихованої форми у вільну легкозасвоювану форму. Масова частка БАР в кріозаморожених ХВО в 2,2...2,5 рази більша ніж у свіжих хлорофілвмісних овочах, розкрито механізм.

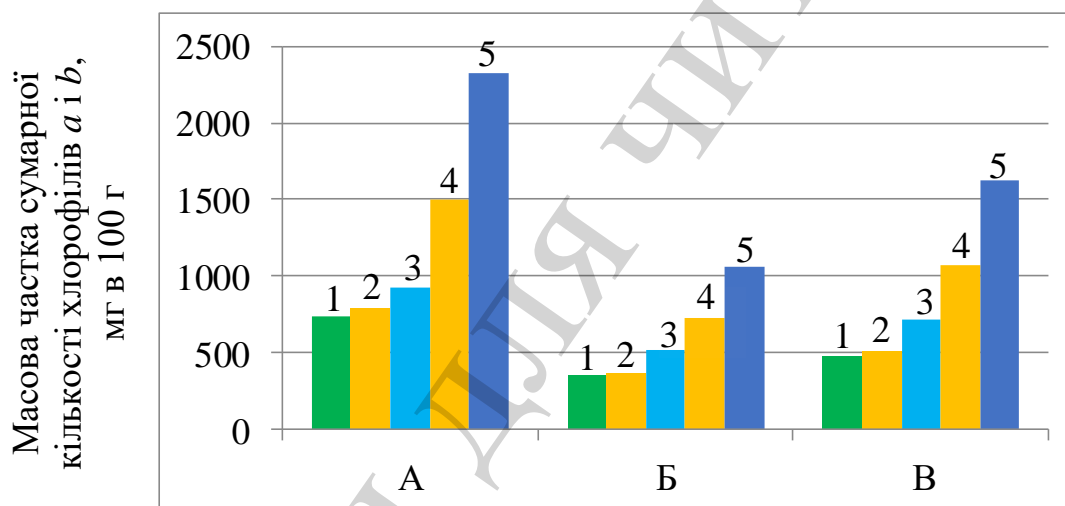


Рис. 1. Збереження хлорофілу *a* і *b* та вилучення прихованих форм із нанокмплексів та наноасоціатів з біополімерами при кріогенному «шоковому» заморожуванні та дрібнодисперсному подрібненні ХВО, де: А – листя шпинату, Б – зелень селери, В – зелень петрушки; 1 – свіжі ХВО; 2, 3 – заморожені до -18 °С (2) та дрібнодисперсно подрібненні ХВО (3); 4, 5 - заморожені до -35 °С (4) та дрібнодисперсно подрібненні ХВО (5)

Модельними дослідженнями встановлено, що при кріогенному «шоковому» заморожуванні ХВО з використанням високих та надвисоких швидкостей до температури -18 °С інактивація окислювальних ферментів (пероксидази та поліфенолоксидази) не відбувається (табл. 2). Лабораторне обладнання, що використовувалось під час проведення досліджень, мало похибку від 0,0001 до 0,05 % в залежності від типу приладу.



Таблиця 2

Вплив швидкості криогенного «шокового» заморожування ХВО, кінцевої температури в середині продукту та дрібнодисперсного подрібнення на активність окислювальних ферментів ( $n=3$ ,  $P \geq 0,95$ )

Продукт	Активність			
	пероксидази		поліфеноокси	
	0,01 N розчину йоду	% до вих. сировини	0,01 N розчину йоду	% до вих. сировини
Листя шпинату (сорт «Вікторія»)				
Свіжий (вихідна сировина)	25,6	100,0	6,2	100,0
Заморожений до $-18^{\circ}\text{C}$	33,2	130,0	9,0	145,1
Кріопаста зі шпинату замороженого до $-18^{\circ}\text{C}$	75,1	300,0	16,2	353,3
Кріозаморожений до $-35^{\circ}\text{C}$	0	0	0	0
Кріопаста зі шпинату замороженого до $-35^{\circ}\text{C}$	0	0	0	0
Зелень селери (сорт «Президент»)				
Свіжа (вихідна сировина)	13,2	100,0	2,8	100,0
Заморожена до $-18^{\circ}\text{C}$	18,6	140,0	4,2	150,0
Кріопаста із зелені селери замороженої до $-18^{\circ}\text{C}$	35,2	304,5	8,1	407,8
Кріозаморожена до $-35^{\circ}\text{C}$	0	0	0	0
Кріопаста із зелені селери замороженої до $-35^{\circ}\text{C}$	0	0	0	0
Зелень петрушки (сорт «Листова кучерява»)				
Свіжа (вихідна сировина)	6,8	100,0	2,4	100,0
Заморожена до $-18^{\circ}\text{C}$	9,6	141,2	3,5	145,8
Кріопаста із зелені петрушки замороженої до $-18^{\circ}\text{C}$	20,2	320,6	7,2	329,2
Кріозаморожена до $-35^{\circ}\text{C}$	0	0	0	0
Кріопаста із зелені петрушки замороженої до $-35^{\circ}\text{C}$	0	0	0	0

Розроблені криогенні нанотехнології виробництва зеленої лінійки оздоровчих дрібнодисперсних добавок із хлорофілвмісних овочів (листя шпинату, зеленої селери, зелені петрушки) з високим вмістом хлорофілу та інших БАР (рис. 2).

Від традиційних нові технології відрізняються використанням рідкого та газоподібного азоту як екологічно чистого натурального холодоагенту та інертного середовища. Як інновацію кріотехнології включають застосування криогенного «шокового» заморожування з високою швидкістю (від  $1$  до  $10^{\circ}\text{C}$  на хвилину) та заморожування до більш низької температури в середині продукту

(-32...-35 °C) ніж при традиційному «шоковому» заморожуванні (до -18...-20 °C) (рис. 2). Крім того, кріотехнології включають низькотемпературне дрібнодисперсне подрібнення заморожених ХВО. Відпрацьовані раціональні технологічні режими кріогенного «шокового» заморожування та низькотемпературного подрібнення (рис. 2).



Рис. 2. Принципова технологічна схема виробництва зеленої лінійки оздоровчих дрібнодисперсних заморожених добавок із хлорофілвмісних овочів з рекордним вмістом хлорофілів отриманих з використанням кріогенної нанотехнології

Кількість рідкого азоту, який використовувався на 1 кг замороженої кріопасті із хлорофілвмісних овочів складав від 0,5 до 1,0 л.

Дрібнодисперсні заморожені пасти із хлорофілвмісних овочів, які отримані за кріогенною нанотехнологією відрізняються рекордним вмістом натурального хлорофілу,  $\beta$ -каротину, L-аскорбінової кислоти, фенольних сполук та перевищують відомі світові аналоги та вихідну сировину в декілька (3,0...3,5) раз (рис. 3). Кріопасті із ХВО мають принципово новий хімічний склад ніж отримані за традиційною технологією, знаходяться в нанорозмірній формі, що легко засвоюється організмом людини. Так, масова частка хлорофілу в 100 г продукту складає від 1057 мг (в кріопасті із зелені селери), 1620 мг (в кріопасті із зелені петрушки) до 2320 мг (в кріопасті зі шпинату). В 100 г кріопаст масова частка  $\beta$ -каротину становить від 10,7 (в кріопасті із зелені селери) до 23,0 мг (в кріопасті зі шпинату), L-аскорбінової кислоти – від 274,5 мг (в кріопасті зі шпинату) до 800 мг (в кріопасті із зелені петрушки). Отримані результати збільшення масової частки хлорофілу та інших БАР є загальними та не залежать від сорту ХВО.

Із застосуванням отриманих кріопаст розроблена зелена лінійка оздоровчих продуктів та страв (наносорбети, сиркові десерти, нанопаї, желе, бісквіти, начинки для кондитерських виробів, соуси-дресінги та ін.). Нові види добавок із ХВО виступають як натуральні барвники, згущувачі, стабілізатори текстури. Застосування кріопаст із ХВО при виготовленні оздоровчих продуктів дає змогу виключити необхідність застосування при виробництві шкідливих для здоров'я харчових домішок.

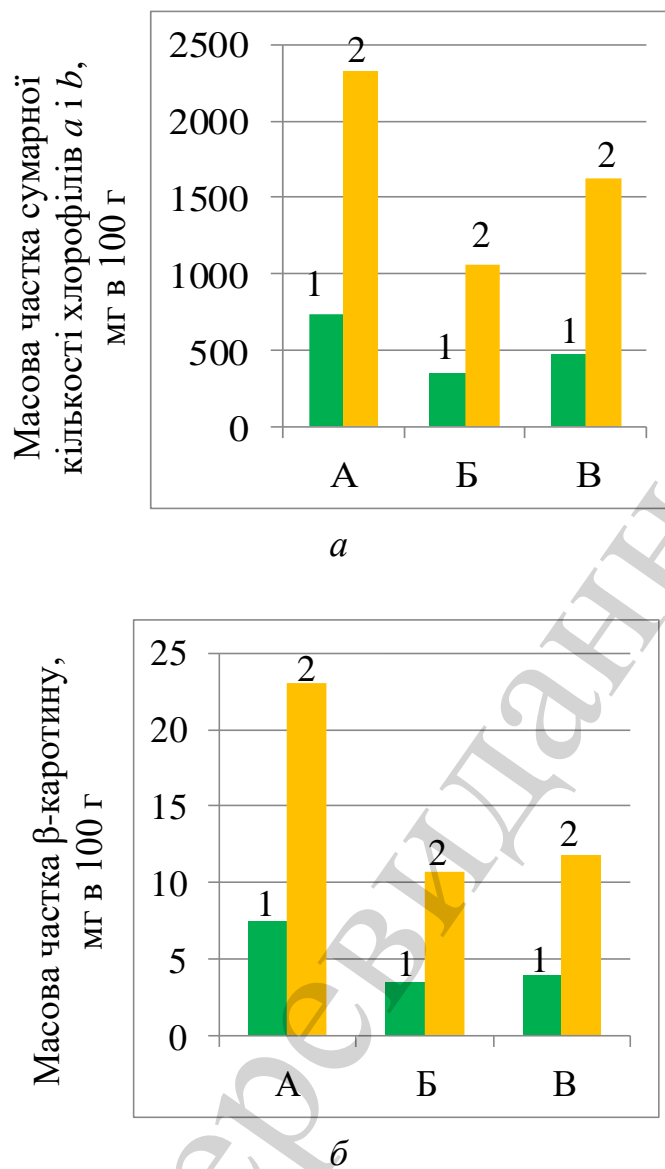


Рис. 3. Вміст хлорофілу та  $\beta$ -каротину в кріозаморожених пастах із хлорофілвмісних овочів, де: А – листя шпинату, Б – зелень селери, В – зелень петрушки; 1 – свіжі ХВО, 2 – кріозаморожені пасти із ХВО; а, б – масова частка сумарної кількості хлорофілів а і в (а) та  $\beta$  – каротину (б)

#### 6. Обговорення результатів впливу процесів кріомеханодеструкції на хлорофіли та інші БАР ХВО при розробці нанотехнологій кріозаморожених добавок

Досліджено хімічний склад ХВО, включаючи вміст хлорофілу та інших БАР. Показано, що серед досліджуваних видів ХВО найбільшим вмістом хлорофілу а і б відрізнявся шпинат (0,74 %). Масова частка хлорофілу в зелені петрушки та селери була в 1,5...2 рази меншою і становила відповідно 0,49 % та 0,35 % (табл. 1). Показано, що шпинат можна розглядати як джерело  $\beta$ -каротину. Масова частка  $\beta$ -каротину в 100 г листя шпинату була на рівні моркви – традиційного джерела  $\beta$ -каротину в харчуванні населення України. Так, в

100 г шпинату масова частка  $\beta$ -каротину складала 7,5 мг, в моркві – від 8 до 10 мг, що відповідає двом добовим потребам організму людини в  $\beta$ -каротині [4, 6].

Показано також, що найбільшою кількістю L-аскорбінової кислоти в 100 г продукту відрізнялась зелень петрушки (250 мг), потім зелень селери (98 мг) і на третьому місті за вмістом L-аскорбінової кислоти знаходився листя шпинат (72,8 %) (табл. 1). Показано, що зелені хлорофілвмісні листові овочі за вмістом L-аскорбінової кислоти перевищують цитрусові. Встановлено, що зелень петрушки наближається за вмістом L-аскорбінової кислоти до вмісту в шипшині, чорній смородині та перцю солодкому, що є рекордсменами серед ягід і овочів [4, 6].

Встановлено, що ХВО відрізняються також значною кількістю природних антиоксидантів, детоксикантів, зокрема поліфенольних сполук, кількість яких складала 0,35...0,38 %, за винятком зелені петрушки – 0,27 % (табл. 1).

Показано, що встановлені для різних видів ХВО закономірності впливу процесів кріомеханодеструкції на хлорофіли та інші БАР є загальними та не залежать від сорту дослідних зразків.

Таким чином, при вивченні хімічного складу свіжих ХВО була встановлена наявність в складі унікального комплексу БАР – фітокомпонентів (хлорофілу *a* і *b*,  $\beta$ -каротину, L-аскорбінової кислоти, низькомолекулярних і високомолекулярних фенольних сполук – танінів). Показано, що 100 г хлорофілвмісних овочів здатні задовольнити декілька добових потреб людини в хлорофілах,  $\beta$ -каротині, фенольних сполуках та L-аскорбіновій кислоті (табл. 1). Зазначений комплекс натуральних БАР – фітокомпонентів надає свіжим ХВО лікувально-профілактичні властивості, зокрема, протипухлинну, імуномодулюючу, детоксикуючу, антиоксидантну дію, сприяє зміцненню судин серця, мозку та ін. [10–12].

Головним при розробці нового способу глибокої переробки ХВО в оздоровчі заморожені нанодобавки було максимально зберегти хлорофіли та інші БАР. Втрати хлорофілу при використанні існуючих технологічних методів обробки ХВО становлять в залежності від виду технологічної обробки від 25 до 100 %. Виключення складають продукти сублімаційного сушіння та «шокового» заморожування. При отриманні останніх втрати хлорофілу складають: при заморожуванні – 25...35 %, при розморожуванні – додатково 50...60 %. Причина втрат не встановлена.

Запропоновано та науково обґрунтовано спосіб консервування та кріотехнологію заморожених дрібнодисперсних добавок із ХВО. Запропонований спосіб дає змогу не тільки зберегти хлорофіли, каротиноїди та інші БАР вихідної сировини, а також більш повно вилучити приховані зв'язані з біополімерами форми у вільну. Спосіб заснований на використанні як інновації кріогенного «шокового» заморожування з використанням рідкого та газоподібного азоту та дрібнодисперсного подрібнення, що супроводжуються процесами кріомеханохімії, кріомеханодеструкції та механоактивації.

Показано, що використання комплексної дії на сировину кріогенного «шокового» заморожування до  $-35...-40$  °C та дрібнодисперсного подрібнення призводять до високого ступеню вилучення прихованих зв'язаних форм БАР (хлорофілів, каротиноїдів, фенольних сполук, L-аскорбінової кислоти та інших)

хлорофілвмісних овочів. Масова частка зазначених БАР в заморожених добавках в 3,2...3,5 раз більша ніж у свіжих ХВО (табл. 1, рис. 1).

Розкрито механізм вилучення прихованих (зв'язаних в наноконкомплексах) форм хлорофілу, каротину та інших БАР ХВО при криогенному «шоковому» заморожуванні та дрібнодисперсному подрібненні. Останній є результатом дії процесів кріокрекінгу, механокрекінгу (руйнування) наноконкомплексів та наноасоціатів біополімерів (білку, полісахаридів) з низькомолекулярними БАР і мінеральними речовинами та призводить до трансформації БАР у вільну форму.

Одним із основних факторів, що впливають на якість кінцевої продукції, при переробці плодів та овочів в оздоровчі добавки та продукти за допомогою різних технологій, в тому числі технологій заморожування, є інактивація окислювальних та гідролітичних ферментів. Що стосується ХВО, то при переробці хлорофілвмісних овочів зазначені процеси майже не вивчені.

В зв'язку з цим актуальним є вивчення особливостей ферментативних, біохімічних та кріомеханічних процесів при розробці нанотехнологій дрібнодисперсних добавок у формі паст із ХВО з використанням криогенного «шокового» заморожування та дрібнодисперсного подрібнення.

Встановлено, що при розморожуванні отриманих дрібнодисперсних добавок із ХВО заморожених до температури  $-18^{\circ}\text{C}$  через 30-40 хвилин спостерігаються значні втрати хлорофілу, які становлять 50...60 %, а також відбувається побуріння ХВО. Показано, що при розморожуванні ХВО та дрібнодисперсних добавок із них криогенно заморожених до більш низької температури в середині продукту, до  $-35...-40^{\circ}\text{C}$ , втрати хлорофілу не відбуваються (табл. 1, рис. 1). В зв'язку з цим було зроблено припущення, що заморожування ХВО до  $-18^{\circ}\text{C}$  не призводить до інактивації окислювальних ферментів (пероксидази, поліфенолоксидази). Крім того, при розморожуванні продукту навпаки спостерігається збільшення ферментативної активності. Це свідчить про активацію ферментів під час заморожування до температури  $-18^{\circ}\text{C}$  аналогічно активації ферментів під час теплової обробки. Процеси активації та інактивації окислювальних ферментів плодів та овочів при тепловій обробці відображені в численних монографіях і навчальних посібниках по біохімії плодів та овочів [31]. Дані щодо впливу заморожування на ферментативну активність плодів та овочів в літературі не виявлені. В зв'язку з цим актуальним є відпрацювання і виявлення умов заморожування, що призводять до інактивації окислювальних ферментів при кріообробці ХВО.

Показано, що при заморожуванні ХВО до  $-18^{\circ}\text{C}$  відбувається активація в 1,3...1,5 раз окислювальних ферментів. Виявлено і показано, що при подальшому низькотемпературному подрібненні при отриманні заморожених гомогенних паст в нанорозмірній формі відбувається додаткове збільшення активності окислювальних ферментів. Активність ферментів при отепленні кріопаст в 3,5...4,0 раз більша активності ферментів в свіжих ХВО (табл. 2). Встановлені механізми активації окислювальних ферментів.

Встановлено, що при криогенному «шоковому» заморожуванні ХВО з використанням високих швидкостей до температури в продукті  $-35...-40^{\circ}\text{C}$  відбувається повна інактивація окислювальних ферментів, яка пов'язана з незворотньою денатурацією білкової структури останніх.

Показано, що при подальшому дрібнодисперсному подрібненні і отриманні паст, а також при розморожуванні активність окислювальних ферментів не відновлюється (табл. 2). Отримані результати наукових досліджень окислювальних ферментативних процесів при кріозаморожуванні та дрібнодисперсному подрібненні ХВО дозволять по-новому розглянути процеси кріообробки та кріомеханохімічні процеси при розробці кріогенних технологій.

Повна інактивація окислювальних ферментів в кріозаморожених до температури в продукті  $-35\ldots-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  ХВО та в дрібнодисперсних добавках із них забезпечує більш довгий строк зберігання, який становить 12 місяців без втрат хлорофілу та інших БАР при зберіганні та розморожуванні.

Характерною особливістю отриманих результатів є те, що запропонований підхід забезпечує не тільки збереження біологічного потенціалу рослинної сировини, а також можливість реалізації перспектив щодо більш повного його використання.

Це новий напрямок глибокої переробки харчової сировини. Робота має практичне значення, оскільки за вмістом хлорофілу та інших БАР коефіцієнт корисної дії (ККД) отриманих нанодобавок і продуктів із ХВО в  $3,0\ldots3,5$  рази більше ніж дозволяють отримати існуючі технології. Запропонований спосіб переробки ХВО в нанодобавки та оздоровчі продукти відкриває для харчових технологій нові можливості та знайде свого споживача. Загально прийнято, що в останні роки на планеті відбуваються значні втрати корисної рослинної харчової сировини (плодів та овочів). Загальні втрати під час переробки, транспортування, зберігання становлять сотні мільярдів тон. При цьому питанню про те, що в плодах і овочах існують в значній кількості приховані зв'язані неактивні форми БАР – приховані резерви сировини, які не використовуються людством, не приділялася увага. Дана робота висвітлює саме це питання, що відкриває перспективу переробки ХВО в нанодобавки та оздоровчі продукти.

Таким чином, під час виконання роботи при переробці ХВО за кріогенною технологією в заморожені оздоровчі продукти – дрібнодисперсні пасти було виявлено в хлорофілвмісних овочах значну кількість прихованих, зв'язаних неактивних форм хлорофілу та інших БАР – прихованих резервів сировини. Встановлено, що в ХВО в зв'язаній прихованій формі знаходиться в  $3,0\ldots3,5$  рази більше хлорофілу, ніж можна екстрагувати із свіжих овочів.

Розроблено метод глибокої переробки ХВО в заморожені оздоровчі продукти – кріопасті. Метод заснований на застосуванні кріогенного «шокового» заморожування та низькотемпературного подрібнення, комплексне застосування яких призводить до повної інактивації окислювальних ферментів та до кріо- і механодеструкції наноконкомплексів і наноасоціатів хлорофілу та інших БАР з біополімерами і мінеральними речовинами і сприяє збереженню, додатковому вилученню та стабілізації хлорофілу та інших БАР.

Отримані кріопасті із ХВО мають унікальну текстуру, виготовлені без застосування харчових домішок і рекомендуються для використання при виготовленні широкого асортименту оздоровчих продуктів як натуральні барвники, згущувачі, стабілізатори текстури, гелеутворювачі та унікальне джерело різних фітокомпонентів.

## 7. Висновки

1. Зроблено відкриття прихованих зв'язаних неактивних форм хлорофілу та інших БАР в хлорофілвмісних овочах при використанні процесів кріомеханохімії та кріомеханодеструкції при розробці кріотехнології оздоровчих продуктів – заморожених дрібнодисперсних кріопаст. Встановлено, що в ХВО в зв'язаній формі знаходиться в 3,0...3,5 раз більше хлорофілу, ніж які можна екстрагувати із свіжих овочів. Показано, що використання комплексної дії на ХВО кріогенного «шокового» заморожування та дрібнодисперсного подрібнення призводить до високого ступеню вилучення із сировини прихованих зв'язаних форм БАР (в 3,2...3,5 раз більше, ніж у свіжих овочах). Розкрито механізм процесу.

2. Встановлено, що активність окислювальних ферментів (пероксидази та поліфенолоксидази) кріозаморожених (з використанням рідкого та газоподібного азоту) з високою швидкістю хлорофілвмісних овочів залежить від кінцевої температури заморожування в середині продукту. Показано, що заморожування до температури  $-35...-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  призводить до повної інактивації окислювальних ферментів, в той час як заморожування до  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  призводить до збільшення активності в 1,4...1,5 рази. Розкрито механізм впливу кінцевої температури кріозаморожування в середині ХВО на активність окислювальних ферментів.

3. Розроблено кріотехнології заморожених дрібнодисперсних добавок із ХВО з використанням рідкого та газоподібного азоту. Нанотехнології включають дрібнодисперсне подрібнення в нанорозмірну форму попереднє кріозаморожених ХВО. Це призводить до збільшення в 3,2...3,5 рази масової частки хлорофілу та інших БАР та дає можливість використовувати отримані заморожені добавки як натуральні збагачувачі БАР та барвники, натуральні структуроутворювачі, загусники при отриманні оздоровчих продуктів без застосування синтетичних домішок.

4. Показано, що дрібнодисперсні заморожені пасти із хлорофілвмісних овочів, які отримані за кріогенною нанотехнологією відрізняються рекордним вмістом натурального хлорофілу,  $\beta$ -каротину, L-аскорбінової кислоти, фенольних сполук та перевищують відомі світові аналоги та вихідну сировину в декілька (3,0...3,5) раз. Кріопасті із ХВО мають принципово новий хімічний склад ніж отримані за традиційною технологією, знаходяться в нанорозмірній формі, що легко засвоюється організмом людини. Так, масова частка хлорофілу в 100 г продукту складає від 1057 мг (в кріопасті із зелені селери), 1620 мг (в кріопасті із зелені петрушки) до 2320 мг (в кріопасті зі шпинату).

## Література

1. Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health: report of a Joint WHO/FAO/UNU (2010). Expert Consultation. Geneva: World Health Organization.
2. Капрельянц, Л. В., Иоргачева, К. Г. (2003). Функциональные продукты. Одесса: Друк, 312.
3. Тутельян, В. А. (2010). Научные основы здорового питания. Москва: Панорама. Наука и практика, 816.
4. Павлюк, Р. Ю. (Ред.) (2017). Энциклопедия питания. Т. 5. Биологически активные добавки. Х.: Мир Книг, 406.

5. Симахина, Г. А., Українець, А. І. (2010). Інноваційні технології і продукти оздоровительного питания. Київ: НУХТ, 295.

6. Павлюк, Р. Ю. та ін. (2019). Нанотехнології «NaturSuperFood» для здорового харчування. Х.: Факт, 487.

7. Wu, Z.-M., Wang, L., Zhu, W., Gao, Y.-H., Wu, H.-M., Wang, M. et. al. (2017). Preparation of a chlorophyll derivative and investigation of its photodynamic activities against cholangiocarcinoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 285–292. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.05.052>

8. Burana-osot, J., Soonthornchareonnon, N., Hosoyama, S., Linhardt, R. J., Toida, T. (2010). Partial depolymerization of pectin by a photochemical reaction. *Carbohydrate Research*, 345 (9), 1205–1210. doi: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.04.007>

9. Özkan, G., Ersus Bilek, S. (2015). Enzyme-assisted extraction of stabilized chlorophyll from spinach. *Food Chemistry*, 176, 152–157. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.059>

10. Derrien, M., Badr, A., Gosselin, A., Desjardins, Y., Angers, P. (2017). Optimization of a green process for the extraction of lutein and chlorophyll from spinach by-products using response surface methodology (RSM). *LWT - Food Science and Technology*, 79, 170–177. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.010>

11. Limantara, L., Dettling, M., Indrawati, R., Indriatmoko, Brotosudarmo, T. H. P. (2015). Analysis on the Chlorophyll Content of Commercial Green Leafy Vegetables. *Procedia Chemistry*, 14, 225–231. doi: <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.03.032>

12. Синха, Н. К., Хью, И. Г. (2014). Настольная книга по переработке плодовоовощной продукции. СПб.: Профессия, 912.

13. Стрингер, М., Деннис, К. (2004). Охлажденные и замороженные продукты. СПб.: Профессия, 492.

14. Pavlyuk, R., Pogarskaya, V., Cherevko, O., Pavliuk, V., Radchenko, L., Dudnyk, E. et. al. (2018). Studying the complex of biologically active substances in spicy vegetables and designing the nanotechnologies for cryosupplements and nanoproductions with health benefits. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 4 (11 (94)), 6–14. doi: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2018.133819>

15. Pavlyuk, R., Pogarska, V., Timofeyeva, N., Bilenko, L., Stukonozhenko, T. (2016). Exploring the processes of cryomechanodestruction and mechanochemistry when devising nano-technologies for the frozen carotenoid plant supplements. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 6 (11 (84)), 39–46. doi: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2016.86968>

16. Pavlyuk, R., Pogarska, V., Kakadii, I., Pogarskiy, A., Stukonozhenko, T. (2017). Influence of the processes of steam-thermal cryogenic treatment and mechanolysis on biopolymers and biologically active substances in the course of obtaining health promoting nanoproductions. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 6 (11 (90)), 41–47. doi: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2017.117654>

17. Evans, J. (2016). Emerging Refrigeration and Freezing Technologies for Food Preservation. *Innovation and Future Trends in Food Manufacturing and Supply Chain Technologies*, 175–201. doi: <https://doi.org/10.1016/b978-1-78242-447-5.00007-1>

18. Espinoza Rodezno, L. A., Sundararajan, S., Solval, K. M., Chotiko, A., Li, J., Zhang, J. et. al. (2013). Cryogenic and air blast freezing techniques and their effect



on the quality of catfish fillets. *LWT - Food Science and Technology*, 54 (2), 377–382. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.07.005>

19. Tuan Pham, Q. (2014). Freezing time formulas for foods with low moisture content, low freezing point and for cryogenic freezing. *Journal of Food Engineering*, 127, 85–92. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.12.007>

20. James, S. J., James, C. (2014). Chilling and Freezing. *Food Safety Management*, 481–510. doi: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-381504-0.00020-2>

21. Tu, J., Zhang, M., Xu, B., Liu, H. (2015). Effects of different freezing methods on the quality and microstructure of lotus (*Nelumbo nucifera*) root. *International Journal of Refrigeration*, 52, 59–65. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2014.12.015>

22. Tolstorebrov, I., Eikevik, T. M., Bantle, M. (2016). Effect of low and ultra-low temperature applications during freezing and frozen storage on quality parameters for fish. *International Journal of Refrigeration*, 63, 37–47. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2015.11.003>

23. The Effect of Storage Temperature on the Ascorbic Acid Content and Color of Frozen Broad Beans and Cauliflowers and Consumption of electrical Energy during Storage (2015). *Gıda*, 11 (5). URL: <https://doaj.org/article/f6cf2689b10743ff95faa483fd8d6956>

24. Misra, N. N., Koubaa, M., Roohinejad, S., Juliano, P., Alpas, H., Inácio, R. S. et. al. (2017). Landmarks in the historical development of twenty first century food processing technologies. *Food Research International*, 97, 318–339. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.001>

25. Min, K., Chen, K., Arora, R. (2014). Effect of short-term versus prolonged freezing on freeze–thaw injury and post-thaw recovery in spinach: Importance in laboratory freeze–thaw protocols. *Environmental and Experimental Botany*, 106, 124–131. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.01.009>

26. Павлюк, Р. Ю., Погарська, В. В., Маціпура, Т. С., Максимова, Н. П. (2015). Розробка нанотехнології дрібнодисперсного замороженого пюре із грибів шампінйонів (*Agaricus Bisporus*). *Східно-Європейський журнал передових технологій*, 6 (10 (78)), 24–28. doi: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2015.56145>

27. Павлюк, Р. Ю., Погарський, О. С., Каплун О. А., Лосева, С. М. (2015). Розробка кріогенної технології заморожування хлорофілвмісних овочів. *Східно-Європейський журнал передових технологій*, 6 (10 (78)), 42–47. doi: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2015.56111>

28. Pavlyuk, R., Pogarska, V., Balabai, K., Pavlyuk, V., Kotuyk, T. (2016). The effect of cryomechanodestruction on activation of heteropolysaccharide-protein nanocomplexes when developing nanotechnologies of plant supplements. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 4 (11 (82)), 20–28. doi: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2016.76107>

29. Павлюк, Р. Ю., Погарська, В. В., Радченко, Л. О., Юр'єва, О. О., Гасанова, Г. Е., Абрамова, Т. С., Коломієць, Т. М. (2015). Розробка технології наноекстрактів та нанопорошків із прянощів для оздоровчих продуктів. *Східно-Європейський журнал передових технологій*, 3 (10 (75)), 54–59. doi: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2015.43323>

30. Кретович, В. Л. (1986). *Биохимия растений*. М.: Высшая школа, 535.